江西地产苍耳草抑制坏死性凋亡(necroptosis)活性部位化学成分研究(Ⅰ)

盛天露[1]，付璐鹭[1]，许俊申[1]，尚锐峰[1]，陈钟文[1]，刘峰[2]，刘华[1*]

（1．江西中医药大学药学院，南昌 330004；2．江西中医药大学附属医院，南昌 330006）

摘要：苍耳为民间传统药用植物，本课题组前期研究发现江西地产苍耳草大孔树脂 50%乙醇洗脱部位具有显著的抑制细胞坏死性凋亡(necroptosis)活性。为明确苍耳草的活性成分，活性部位采用反复硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱、制备高效液相色谱、重结晶等多种方法进行分离和纯化，运用 NMR、MS 等波谱方法并结合文献数据对分离得到的化合物进行结构鉴定。从该活性部位中分离得到 14 个化合物，分别鉴定为 hydroxydihydrobovolide（1）、树莓酮（**2**）、水杨醇（**3**）、对羟基苯乙酮（**4**）、对羟基苯甲醛（**5**）、咖啡酸乙酯（**6**）、阿魏醛（**7**）、异东莨菪素（**8**）、3,3' –bis(3,4-dihydro-4-hydroxy-6-methoxy- 2*H*-1-benzopyran)（**9**）、axillarin （**10**）、槲皮素（**11**）、（+）松脂素（**12**）、β-谷甾醇（**13**）和棕榈酸（**14**）。化合物 **1**、**2**、**3**、**4**、**7**、**8**、**9**、**10** 为首次从苍耳草中分离得到。

关键词：苍耳草，坏死性凋亡（necroptosis），活性部位，化学成分，江西

Chemical constituents of the necroptosis-inhibited active fraction from *Xanthium mongolicum* in Jiangxi (Ⅰ)

SHENG Tianlu[1]，FU Lulu[1]，XU Junshen[1]，SHANG Ruifeng[1]，CHEN Zhongwen[1]，LIU Feng[2]，LIU Hua[1*]

(1．*College of Pharmacy*，*Jiangxi University of Chinese Medicine*，Nanchang，330004，China；
2．*Affiliated Hospital*，*Jiangxi University of Chinese Medicine*，Nanchang，330006，China)

Abstract： Herba Xanthii is a traditional folk medicinal plant.The 50% ethanol eluting faction of *Xanthium mongolicum* in Jiangxi had significant activity to inhibit necroptosis. In order to investigate the chemical constituents, the active fractions of *X. sibiricum* were isolated and purified by various chromatographic methods such as repeated silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, preparative high performance liquid chromatography and recrystallization to yield 14 compounds. Their structures were established on the basis of NMR, MS spectraoscopic analyses and comparison with lirerature date. Fourteen compounds were isolated from the active part and identified as hydroxydihydrobovolide(**1**), raspberry ketone(**2**), salicyl alcohol(**3**), 4-hydroxyl-acetophenone(**4**), 4-hydroxybenzaldehyde(**5**), ethyl caffeate(**6**), ferulaldehyde(**7**), isoscopletin(**8**), 3,3'-bis(3,4-dihydro-4-hydroxy-6 -methoxy-2*H*-1-benzopyran)(**9**)，axillarin (**10**)，quercetin (**11**)，(+) pinoresinol(**12**)，β-sitosterol(**13**) and palmatic acid(**14**). Compounds **1**, **2**, **3**, **4**, **7**, **8**, **9**, **10** were isolated from *Xanthium mongolicum* for the first time.

Key Words： *Xanthium mongolicum*, necroptosis, active fractions, chemical constituents, Jiangxi

中图分类号：　　　　**文献标识码：**A　　　　文章编号：

基金项目：国家自然科学基金（81760706）；江西省中医药大学中药学一流学科专项科研基金（JXSYLXK-ZHYAO022，JXSYLXK-ZHYAO112）[Supported by the National Natural Science Foundation of China(81760706); Scientific Research Special Project Science and Technology Project for Chinese Medicine First-Class Discipline from Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (JXSYLXK-ZHYAO022, JXSYLXK-ZHYAO112)]。

作者简介：盛天露（1995-），硕士研究生，主要从事天然产物的化学成分研究，（E-mail）2907078452@qq.com。
***通信作者：**刘华，博士，教授，博士生导师，主要从事天然产物药效物质基础及活性研究，（E-mail）winner616@163.com。

Necroptosis 又被称为程序性细胞坏死或细胞坏死性凋亡，是近年来新发现的一种既受死亡信号调控、又出现坏死样结构特点的细胞死亡类型。许多研究表明 Necroptosis 与肿瘤细胞转移及对化疗产生耐药、药物诱导的肝损伤、神经退行性病症以及心肌梗死，中风，胰腺炎，肠炎和皮肤炎等许多疾病的病理性和器质性等损伤有关 (Andress et al., 2014; Dongshi et al., 2016)。对 Necroptosis 进行干预可能在临床上减少这些疾病带来的损伤(Galluzzi L et al.,2012)。

中药有数千年治疗炎症和免疫疾病的历史。苍耳为菊科(Compositae)苍耳属(*Xanthium* L.)一年生草本植物。作为民间传统药用植物，世界各地民间常用苍耳治疗鼻炎、风湿性关节炎、发烧、白癜风、淋巴结核、疱疹和癌症（Huang et al., 2011; Nibret et al., 2011; Ma et al., 2009）。《中华本草》记载苍耳性寒，味苦、辛，有小毒，具有驱风散寒，解毒杀虫的功效（中药大词典，1985）。现代药理研究表明苍耳具有抗炎、抗肿瘤、抗菌、抗氧化等药理作用（中华人民共和国药典，2020）。江西省境内该属植物主要为蒙古苍耳 *X. mongolicum*（付小梅等，2017）。本课题组前期在美国得州大学西南医学中心对自建的江西 100 种中草药提取物组分库样品进行活性筛选时，发现苍耳草乙醇提物经大孔树脂乙醇洗脱部位具有抑制程序性细胞坏死的生理活性。为明确苍耳草抑制程序性细胞坏死的活性成分，逐展开对其活性成分的系统化学成分分离。本次报道从大孔树脂 50%乙醇洗脱部位分离得到的 14 个化合物，化合物结构如图 1 所示，其中 8 个化合物为首次从苍耳草中分离得到。

图 1　化合物 1-14 结构
Fig.1　Structure of compounds 1-14

1 材料与仪器

药材于 2017 年 7 月采于江西南昌，由江西中医药大学刘贤旺教授鉴定为菊科苍耳属植物苍耳 *Xanthium mongolicum* Kitag.的地上部分，凭证标本保存于江西中医药大学标本室(ZY-20170701)。

2695 Alliance Separations Module 型高效液相色谱仪和 1525 型制备高效液相色谱仪[Lichrospher C18 制备液相色谱柱（30 mm × 250 mm，10 μm）]（美国 Waters 公司），Inova-600 型超导核磁共振波谱仪（美国 Varian 公司），AB Triple QUAD 4500 质谱仪（美国 AB SCIEX 公司），WFH-203（ZF-1）型三用紫外分析仪（上海精科实业有限公司），AE100 型电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）。LH-20 羟丙基葡聚糖凝胶（Sephadex LH-20，瑞典 GE Healthcar 公司），柱色谱及薄层色谱用硅胶（200 目，青岛海洋化工厂产品）。提取分离用试剂均为分析纯，半制备 HPLC 用甲醇为色谱纯（西陇化工股份有限公司），水为超纯水。

活性筛选用的细胞系为人直肠癌细胞系HT29，培养基为 DMEM Medium加10% FBS和1% P/S。Cell Titer-Glo 细胞活性检测试剂盒购于Promega公司，肿瘤坏死因子TNF-α通过大肠杆菌表达系统表达并纯化得到；促凋亡化合物Smac mimetic 和 Caspase 抑制剂 z-VAD.fmk 由北京生命科学研究所化学中心合成。

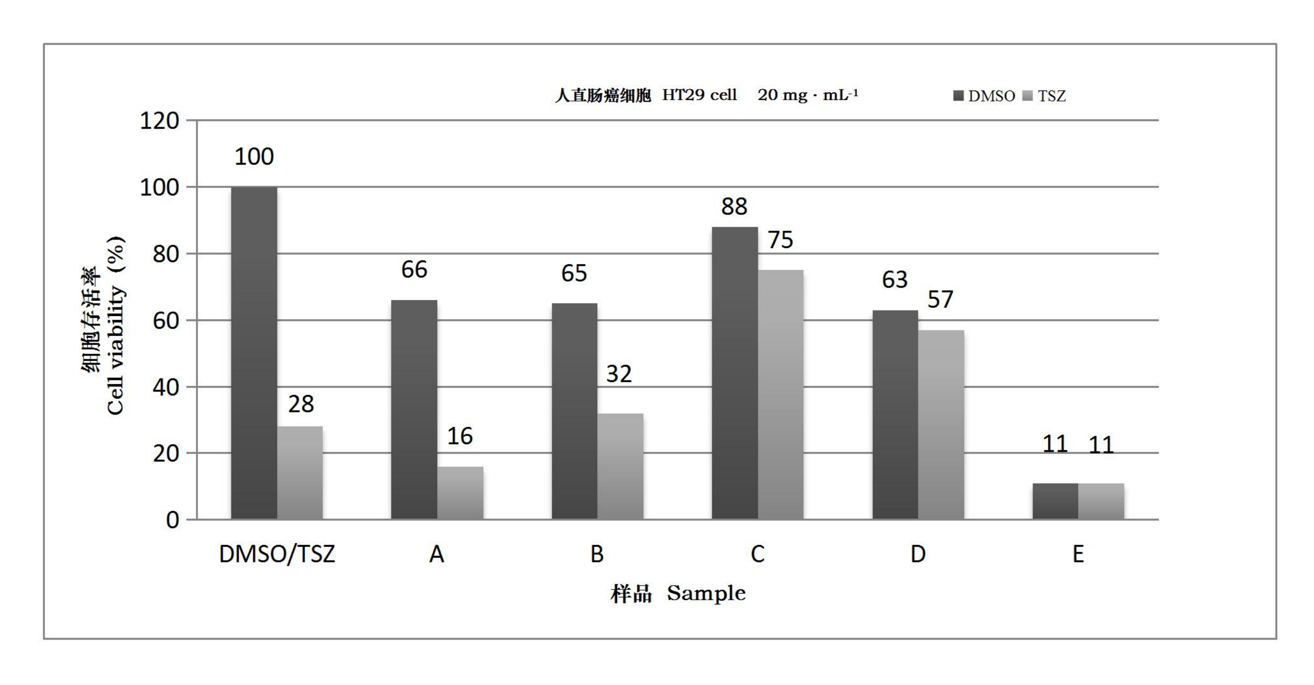
2 提取分离

自然阴干的 10 kg 药材粉碎后过筛，95 %乙醇冷浸提取，每次 7 d，提取 3 次，合并提取液，减压回收溶剂后得到提取物总浸膏 800 g。总浸膏以适量乙醇溶解，拌样，装入已处理好的大孔树脂柱中，依次以不同浓度乙醇梯度洗脱，得到水洗脱部位（标记为 A 部位）（200 g）、30 %乙醇洗脱部位（标记为 B 部位）（80 g）、50 %乙醇洗脱部位（标记为 C 部位）（120 g）、70%乙醇洗脱部位（标记为 D 部位）（60 g）、90 %乙醇洗脱部位（标记为 E 部位）（150 g）。分别取各组分浸膏 20 mg 用 DMSO 配制成 20 mg/mL 储存液，编号，于-20 ℃保存，备筛选用。

3 活性部位筛选

HT29（人直肠癌）细胞模型，经 TSZ（终浓度分别为 20 ng·mL^{-1} **T**NF-α，100 nM **S**mac 和 20 nM **z**-VAD 诱导过夜后，产生 necroptosis。再将配成 20 mg·mL^{-1} 的样品加入到经 TSZ 处理诱导成细胞坏死的 HT29 细胞模型中，37 ºC 恒温培养箱放置过夜。最后用 Cell Titer-Glo（Promega）试剂盒检测细胞 ATP 水平以确定细胞存活率。细胞存活率高的组分说明对 TSZ 介导的细胞坏死有抑制作用。

上述洗脱部位进行细胞程序性坏死抑制实验，筛选结果如图 2 所示。从图中可知经 TSZ 诱导的 HT29 细胞的存活率为 28%，诱导成 necroptosis 的 HT29 细胞在加入 C（50 %乙醇洗脱部位）后将存活率提高到 75%，说明 50%乙醇洗脱部位为活性部位之一。



图中数据是使用 Cell Titer-Glo 试剂盒测定的 ATP 水平，反映 HT29 细胞诱导坏死后用不同样品刺激后存活 12 h 的细胞数量。 **DMSO**. 二甲亚砜； **T**. 肿瘤坏死因子 TNF-α； **S**. 促凋亡化合物 Smac mimetic； **Z**. Caspase 抑制剂 z-VAD. **A**. 水洗脱部位；**B**. 30%乙醇洗脱部位；**C**. 50%乙醇洗脱部位；**D**. 70%乙醇洗脱部位；**E**. 90%乙醇洗脱部位。

The number of surviving HT29 cells with the indicated stimuli for 12 h was determnined by measuring ATP levels using the Cell Titer-Glo kit. **DMSO**. Dimethysulfoxide; **T**. TNF-α； **S**. Samc； **Z**. Z-VAD. **A**. Water eluted fraction; **B**. 30% ethanol eluted fraction; **C**. 50% ethanol eluted fraction; **D**. 70% ethanol eluted fraction; **E**. 90% ethanol eluted fraction.

图 2 苍耳大孔吸附树脂各洗脱部位筛选结果

Fig.2 Screening results of eluted fractions by macroporous resin of *Xanthium mongolicum*

4 化学成分分离

为进一步明确活性成分，50%乙醇洗脱部位 C（120 g）以二氯甲烷：甲醇（200:1~0:1）梯度洗脱，经 TLC 合并相同 R_f 值，得到 C-1~C-11 组分。C-5（15 g）以石油醚：乙酸乙酯 9:1~0:1 梯度洗脱，得 C-5-1~ C-5-2 组分。C-5-1（5 g）以二氯甲烷：甲醇 15:1~0:1 梯度洗脱得 C-5-1-1~ C-5-1-7 组分。C-5-1-1 出现白色结晶，重结晶后得化合物 13（33 mg）。C-5-1-5（0.2 g）析出白色晶体，经甲醇重结晶得到化合物 8（9 mg）。其余组分运用制备型高效液分离纯化，分别得到化合物 6（5 mg）、化合物 10（4 mg）和化合物 3（5 mg）。C-5-2（7 g）以二氯甲烷：甲醇 15:1~0:1 梯度洗脱，得 C-5-2-1~ A-5-2-5 组分。各组分分别以制备型高效液相柱色谱分离，得到化合物 11（6 mg）、化合物 4（3 mg）、化合物 6（50 mg）、化合物 9（4 mg）与化合物 2（5 mg）。C-6（8 g）以二氯甲烷：甲醇 15:1~ 0:1 梯度洗脱，得 C-6-1~ C-6-8 组分。各组分分别以制备型高效液相柱色谱分离，得到化合物 7（4 mg）、化合物 11（7 mg）、化合物 5（5 mg）、化合物 14（10 mg)、化合物 1（8 mg）和化合物 12（5 mg）。

5 结构鉴定

化合物 **1** 黄色固体（甲醇），ESI-MS *m/z*: 199[M+H]$^+$，分子式为 $C_{11}H_{18}O_3$。^{1}H-NMR (600 MHz,Methanol-d_4) δ:1.81(d, J = 0.85 Hz, 3H, H-12)，1.95(d, J = 0.75 Hz, 3H, H-11)，1.32~1.01(m, 8H, H-6, 7, 8, 9)，0.91(t, J = 6.8 Hz, 1H, H-10) 。^{13}C-NMR(150 MHz, Methanol-d_4)δ:173.16(C-2)，124.28(C-3)，159.11(C-4)，107.73(C-5)， 35.50(C-6)，31.30(C-7)，22.37(C-8)，22.10(C-9)，12.96(C-10)，9.31(C-11)，6.91(C-12)。^{1}H-N

MR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献（苏丽丽等，2011）对比一致，故鉴定该化合物为 hydroxydihydrobovolide。该化合物为首次从苍耳草中分离得到。

化合物 **2** 无色粉末（甲醇），ESI-MS *m/z*：163 [M-H]$^-$，分子式为 $C_{10}H_{12}O_2$。^{1}H-NMR(600 MHz，Methanol-d_4）δ:7.02（2H, d, J = 8.5 Hz，H-2'/6'），6.70(2H, d, J = 8.5 Hz，H-3'/5')，2.76(4H, m, H-3, 4)，2.14(3H, s, 1- CH_3)。^{13}C-NMR (150 MHz, Methanol-d_4)δ:28.6(C-1)，210.0(C-2)，28.6(C-3)，44.9(C-4)，131.8(C-1')，128.8(C-2'/6')，114.7(C-3'/5')，155.2(C-4')。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献(Baek et al.， 2011)对比一致，故鉴定该化合物为树莓酮(raspberry ketone, RK)。该化合物也称为覆盆子酮，为首次从苍耳草中分离得到。

化合物 **3** 淡黄色粉末（水），ESI-MS *m/z*：126 [M-H]$^-$，分子式为 $C_7H_8O_2$。^{1}H-NMR(600 MHz，D_2O）δ:7.24(1H, dd, J = 7.5 Hz, J = 1.7 Hz, H-3)，7.18(1H, m, H-5)，6.89(1H, m, H-4)，6.84(1H, d, J = 8.1 Hz, H-6)，4.57(2H, s, H-7)。^{13}C-NMR(150 MHz, D_2O)δ:153.8(C-1)，126.5(C-2)，129.6(C-3)，120.5(C-4)，129.5(C-5)，115.5(C-6)，59.6(C-7)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献(Jensen et al., 1979)对比一致，鉴定该化合物为水杨醇(salicyl alcohol)。该化合物为首次从苍耳草中分离得到。

化合物 **4** 无色粉末（甲醇），ESI-MS *m/z*：134 [M-H]$^-$，分子式为 $C_8H_8O_2$。^{1}H-NMR(600 MHz，Methanol-d_4)δ:7.87(2H, d, J = 8.5 Hz, H-2, 6)，6.80(2H, d, J = 8.6 Hz, H-3, 5)，2.53(3H， s，8- CH_3)。^{13}C-NMR(150 MHz，Methanol-d_4)δ: 129.2(C-1)，132.2(C-2, 6)，116.3(C-3, 5)，165.9(C-4)，199.4(C-7)，26.2(C-8)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献（达娃卓玛等，2008）对比一致，鉴定该化合物为对羟基苯乙酮(4-hydroxyacetophenone, 4-HAP)。该化合物为首次从苍耳草中分离得到。

化合物 **5** 淡黄色粉末（甲醇），ESI-MS *m/z*：123 [M+H]$^+$，分子式为 $C_7H_6O_2$。^{1}H-NMR (600 MHz，Methanol-d_4) δ:9.7(1H, s, - CHO)，7.7(2H, d, J = 8.6 Hz, H-3, 5)，6.9(1H, d, J = 8.5 Hz, H-2, 6)。^{13}C-NMR (150 MHz, Methanol-d_4) δ:191.3(-CHO)，165.1(C-4)，132.1(C-2, 6)，128.3(C-1)，115.8(C-3, 5)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数与文献（徐丽等，2019)对比一致，鉴定该化合物为对羟基苯甲醛(4-hydroxybenzaldehyde, 4-HBd)。

化合物 **6** 淡黄色簇晶（甲醇），ESI-MS *m/z*：209 [M+H]$^+$，分子式为 $C_{11}H_{12}O_4$。^{1}H-NMR(600 MHz，Methanol-d_4)δ:7.52(1H, d, J = 15.9 Hz, H-7)，7.02(1H, d, J = 2.1 Hz, H-2)，6.93(1H, d, J = 8.2 Hz, J = 2.1 Hz, H-6)，6.76(1H, d, J = 8.1 Hz, H-5)，6.24(1H, d, J = 15.9 Hz, H-8)，4.20(2H, q, J = 7.1 Hz, H-10)，1.30(3H, t, J = 7.1 Hz, H-11)。^{13}C-NMR(150 MHz, Methanol-d_4)δ: 122.9(C-1)，115.1(C-2)，146.7(C-3)，149.5(C-4)，116.5(C-5)，127.7(C-6)，146.8(C-7)，115.3(C-8)，169.3(C-9)，61.4(C-10)，14.6(C-11)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献（朱伶俐等，2018）对比一致，鉴定该化合物为咖啡酸乙酯(ethyl caffeate)。该化合物为首次从苍耳草中分离得到。

化合物 **7** 浅黄色油状（甲醇），HR-ESI-MS *m/z*： ESI-MS m/z: 179[M+H]$^+$，分子式为 $C_{10}H_{10}O_3$。^{1}H-NMR (600 MHz, Acetone-d_6) δ:9.64 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-9)，7.55 (1H, s, H-2)，8.14 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-7)，7.20(1H, dd, J = 8.3, 2.0 Hz, H-6)，7.04(1H, d, J = 8.3 Hz, H-5)，6.59 (1H, dd, J = 15.8, 7.7 Hz, H-8)，3.91 (3H, s, 3-OCH_3)。^{13}C-NMR(150 MHz, Acetone-d_6)δ:126.6(C-1)，111.4(C-2)，150.5 (C-3)，147.0(C-4)，122.0(C-5)，126.6(C-6)，153.9(C-7)，114.0(C-8)，193.1(C-9)，55.4(3-OCH_3)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C- NMR 数据与文献(Haruna et al.， 1982)对比一致，鉴定该化合物为阿魏醛(ferulaldehyde, FRA)。该化合物也称为松柏醛，为首次从苍耳草中分离得到。

化合物 **8** 白色粉末（甲醇），ESI-MS m/s：193[M+H]$^+$，分子式为 $C_{10}H_8O_4$。^{1}H-NMR(600 MHz，Methanol-d_4)δ:7.86 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4)，7.12 (1H, s, H-8)，6.78 (1H, s, H-5)，6.21 (1H, d, J = 9.4 Hz, H-3)，3.91 (3H, s, H-11)。^{13}C-NMR(150 MHz, Methanol-d_4)δ:111.22(C-3)，144.73 (C-4)，102.56(C-5)，106.54(C-8)，55.41(C-11)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献（舒任庚等，2010）对比一致，鉴定该化合物为异东莨菪素(isoscopletin) ，为首次从苍耳草中分离得到。

化合物 **9** 淡黄色油状物（甲醇），HR-ESI-MS *m/z*：335 [M+H]$^+$，分子式为 $C_{20}H_{22}O_6$。^{1}H-NMR(600 MHz，Methanol-d_4)δ:6.97(2H, d, J = 1.9 Hz, H-5, 5')，6.83(2H, dd, J = 8.2 Hz, J = 2.0 Hz, H-7, 7')，6.79(2H, d, J = 8.1 Hz, H-8, 8')，4.73(2H, d, J = 4.2 Hz, H-4, 4')，4.25(2H, dd, J = 9.1, 6.9 Hz, H-2a, 2a')，3.88(6H, s, 6, 6'-OCH_3)，3.86(2H, dd, J = 9.5 Hz, 3.9 Hz, H-2b, 2b')，3.17(2H, m, H-3, 3')。^{13}C-NMR(150 MHz, Methanol-d_4)δ:71.2(C-2, 2')，54.0(C-3, 3')，86.1(C-4, 4')，114.7(C-5, 5')，147.7(C-6, 6')，118.6(C-7, 7')，109.5(C-8, 8')，145.9(C-9, 9')，132.4(C-10, 10')，55.0(OCH_3)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献(Saleem et al., 1997)对比一致，鉴定该化合物为 3, 3'–bis(3, 4-dihydro-4-hydroxy- 6-methoxy-2*H*-1-benzopyran)。该化合物首次从苍耳草中分离得到。

化合物 **10** 黄色粉末（甲醇），ESI-MS *m/z*：347 [M+H]$^+$，分子式为 $C_{17}H_{14}O_8$。^{1}H-NMR (600 MHz,

Methanol-d_4) δ:7.62 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2')， 7.52 (1H, dd, J = 8.5, 2.2 Hz, H-6')， 6.89 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5')，6.49 (1H, s, H-8)，3.88 (3H, s, 3'-OCH_3)，3.78 (3H, s, 6-OCH_3) 。^{13}C-NMR(150 MHz, Methanol-d_4)δ：156.72(C-2) 137.83(C-3)，178.89(C-4)， 152.28(C-5)，131.18(C-6)，157.40(C-7)，93.58(C-8)，152.37(C-9)，104.89(C-10)，121.53(C-1')，115.02(C-2')，145.07(C-3')，148.58(C-4')，115.07(C-5')，120.94 (C-6')，59.55(3-OCH_3)，59.11(6-OCH_3)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献(Fadul et al.,2020)对比一致，鉴定该化合物为 axillarin。该化合物首次从苍耳草中分离得到。

化合物 **11** 黄色针晶（甲醇），ESI-MS m/z：303[M+H]$^+$，分子式为 $C_{15}H_{10}O_7$。^{1}H-NMR(600 MHz，Methanol-d_4)δ:7.51(1H, s, H-2')，7.37(1H, d, J = 8.5 Hz, H-6')，6.72(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5')，6.24(1H, s, H-8)，6.02(1H，s, H-6)。^{13}C-NMR(150 MHz, Methanol-d_4)δ：146.8(C-2)，135.7(C-3)，175.8(C-4)，156.1(C-5)，98.2(C-6)，163.9(C-7)，93.4(C-8)，160.7(C-9)，103.0(C-10)，122.0(C-1')，115.1(C-2')，145.1(C-3')，147.7(C-4')，115.6(C-5')，120.0(C-6')。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献（曾令峰等，2017）对比一致，鉴定该化合物为槲皮素(quercetin)。

化合物 **12** 黄色粉末状晶体（甲醇），ESI-MS m/z：359 [M+H]$^+$。分子式为 $C_{20}H_{22}O_6$。^{1}H-NMR (600 MHz，Methanol-d_4) δ:6.97 (2H, d, J = 1.9Hz, H-2, 2')，6.93 (2H, dd, J = 8.2, 1.8Hz, H-6, 6')，6.79 (2H, d, J = 8.1Hz, H-5, 5')，4.73 (1H, d, J = 4.4 Hz, H-7, 7')，4.26 (2H, dd, J = 9.0, 6.9 Hz, H-9a, 9'a)，3.86(2H, dd, J = 9.0, 3.2Hz, H-9b, 9'b)，3.88 (各 3H, s, 2*-CH_3O)。^{13}C-NMR(150 MHz, Methanol-d_4)δ:132.3(C-1, 1')，109.5(C-2, 2') 147.7(C-3, 3')，145.9 (C- 4, 4')，114.6(C-5, 5')，118.6(C-6, 6')，86.1(C-7, 7')，53.9(C-8, 8')，71.2(C-4, 8)，54.9(3', 3''-OCH_3)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献（张莲等，2020）对比一致，鉴定该化合物为(+)松脂素((+)pinoresinol，PINO)。

化合物 **13** 无色针状结晶（甲醇），分子式为 $C_{32}H_{56}O$，10%硫酸-乙醇溶液呈紫色斑点。与对照品混合后三个不同体系展开 R_f 值一致，熔点不下降，故鉴为β-谷甾醇。

化合物 **14** 白色粉末结晶（甲醇），ESI-MS m/z：257[M+H]$^+$，分子式为 $C_{16}H_{32}O_2$。^{1}H-NMR (600 MHz，Methanol-d_4) δ:0.89(3H, t, J =5.9 Hz, H-2)，1.6(24H, brs, H-4~15)，2.08(2H, m, H-3)，2.29(2H, t, J =5.9 Hz, H-2)。^{13}C-NMR (150 MHz, Methanol-d_4) δ：173.7(C-1)，33.2(C-2)，31.7(C-14)，29.6(C-7~12)，29.5(C- 6)，29.4(C-13)，29.3(C- 4)，24.7(C-3)，22.4(C-15)，13.5(C-16)。^{1}H-NMR 与 ^{13}C-NMR 数据与文献（朱伶俐等，2018）对比一致，鉴定该化合物为棕榈酸(palmatic acid)。

4 讨论

苍耳草、苍耳子为同基源不同药用部位的药材，系菊科植物苍耳的干燥地上部分和成熟带总苞的果实，分别收载于 1989 版《江苏省中药材标准》和 2020 版《中国药典》。苍耳子性温，具散风寒、通鼻鸾、祛风湿之功效。而苍耳草性微寒，具清风热、解毒之功效（刘秀娟等，2013）。本课题组前期在美国得州大学西南医学中心进行活性筛选时发现采自江西的苍耳草具有抑制程序性细胞坏死的生理活性，确定其大孔树脂 50%乙醇洗脱部位活性显著。

此次从活性部位分离得到的 14 个化合物中，化合物 1 hydroxydihydrobovolide 为苍耳草中首次分离得到的α,β-不饱和-γ-内酯，具有显著抗肿瘤（苏丽丽等，2011）和抗 HIV 活性(Zhang et al., 2005)。化合物 2～7 为酚类化合物，其中树莓酮具有保肝、保心、抗氧化和抗炎作用(Hamdy et al., 2020; Mir et al., 2021)，现在已广泛应用于食品中的调味剂产品和化妆品美白剂(Lin et al., 2011)。水杨醇具有较好的抗金黄色葡萄球菌活性（杜鹃等，2020）。4-HAP 常作为防腐增效剂使用（范培培等，2020）。4-HBd 具有抗血栓形成（申婷等，2017）、保护血脑屏障（祝燕平等，2018）、减轻神经炎症损伤（向彬等，2017）、抗神经细胞凋亡（周晓楠等，2017）等作用，还可以诱导小鼠骨髓源性巨噬细胞的自噬 (Jina et al., 2020)。咖啡酸乙酯具有抗炎、免疫调节和抗肿瘤等活性，是 NF-κB 信号通路的特异性抑制剂，具有良好的临床应用前景（马瑞丽等，2012）。阿魏醛(FRA)多存在于水果和蔬菜的果皮以及不同植物的叶子中，有抗炎和抗氧化活性(Zhao et al., 2008)，还能抑制脂多糖(LPS)诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 中诱导一氧化氮酶的表达和一氧化氮的合成(Kim et al., 1999)。化合物 8 异东莨菪素为首次从苍耳草中分离得到的香豆素类化合物。化合物 93,3'–bis(3,4-dihydro-4-hydroxy- 6-methoxy-2*H*-1-benzopyran)为首次从苍耳草中分离得到的聚合物。化合物 10 和 11 为黄酮类化合物，其中 Axillarin 表现出较强的抗白色念珠菌(Fatma et al., 2018)、DPPH 自由基清除和超负氧阴离子清除活性(Fadul et al., 2020)，槲皮素具有抑制自由基、抗氧化、抗菌、抗炎、免疫调节、抗病毒、抗癌等多种生物活性，可能在控制或治疗 COVID-19 方面发挥有益作用(Khazdair et al., 2021)。化合物 12 松脂素是一种高价值的植物源木脂素，能够显著抑制人白血病细胞的增殖能力(Sepporta et al., 2013)，并通过诱

导肿瘤细胞周期阻滞和凋亡来减弱结肠癌的进展(Fini et al., 2018)。

Necroptosis 是一种与机体炎症反应和免疫功能密切相关的细胞死亡类型。以上化合物除化合物 8、9、13 和 14 外，其余化合物都表现出各自的抗炎免疫活性。但这些化合物表现的生理活性是否与前期发现的苍耳草对程序性细胞坏死(necroptosis)产生抑制作用的活性相关，是否能从中确定苍耳草抑制 necroptosis 的天然小分子抑制剂，还有待本课题组后期进行更加系统和深入的研究。

参考文献

ANDRESS LM, DAUGLAS R., 2014. Green.Necropsis[J]. N Engl J Med, 1: 455-465.

BAEK SW, KIM ER KIN J, et al., 2011. Chemical constituents of *Abies koreana* leaves with inhibitory activity against nitric oxide production in BV2 microglia cells [J]. Nat Prod Sci, 17(3): 175-180.

DAWA ZM, ZHONG Y, BAI Y, et al., 2008. Studies on the chemical constituents of *Sauaaurea laniceps* [J]. Chin J Chin Mater Med, 33(9): 1032-1035. [达娃卓玛，周燕，白央，等，2008. 绵头雪莲花的化学成分研究[J]. 中国中药杂志，33(9)：1032-1035.]

DU J, 2020. Research of anti-methicillin-resistant staphylococcus aureus active components in *Urtica dioica* [D]. Yichang: Sanxia University. [杜娟，2020. 异株荨麻抗 MRSA 活性成分的研究[D]. 宜昌：三峡大学.]

FADUL E, NIZAMANI A, RASHEED S, et al., 2020. Anti-glycating and anti-oxidant compounds from traditionally used anti-diabetic plant Geigeria alata(DC) Oliv. & Hiern [J]. Nad Prod Res, 34(17): 2456-2464.

FAN PH, ZHANG RR, DU YL, et al., 2020. Research and analysis of the properties of hydroxy-containing preservatives in cosmetics [J]. Guangdong Chem Ind, 47(7): 133-136. [范培浩，张冉冉，杜玉兰，等，2020.化妆品中含羟基类防腐剂性质的研究与分析[J]. 广东化工，47(7)：133-136.]

FATMA M, ABDEL B, MARWA E, et al., 2018. Phytochemical, antimicrobial and antiquorumsensing studies of *pulicaria undulata* L.： a revision on the structure of 1β, 2α, 3β, 19α, 23-pentahydroxyurs-12-en-28-oic acid [J]. Nat Prod Res, doi.org/10.1080/14786419.2018.1503658.

FINI L, HOTCHKISS, FOGLIANO V, et al., 2018. Chemopreventive properties of pinoresinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines [J]. Carcinogenesis, 29: 139-146.

FU XM, PEI JG, WU ZW, et al., 2017. Investigation on resources of cocklebur-like medicinal materials and identification of commercial medicinal materials [J]. J Chin Med Mat, 40(1): 64-68. [付小梅，裴建国，吴志瑰，等，2017. 苍耳类药材资源调查及商品药材鉴定[J]. 中药材，40(1)：64-68.]

GALLUZZI L, VITALE I, ABRAMS JM, et al., 2012. Moleculardefinitions of cell death subroutines：recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death [J]. Cell Death Differ, 19(1) : 107- 120.

HAMDY SM, ELKHAYAT Z, FARRAG A , et al., 2020. Hepato protective effect of Raspberry ketone and white tea against acryl- amide-induced toxicity in rats [J]. Drug Chem Toxicol, 1: 1-9.

HANG L., 2016. Necroptosis: an alternative cell program defending against cancer [J]. BBA, 1865: 228-236.

HARUNA M, KOUBE T, ITO K, et al., 1982. Balanophonin，a new neolignan from Balanophora japonica Makino [J]. Chem Pharm Bull Tokyo, 30(4): 1525-1527.

HUANG MH, WANG BS, CHIU CS, et al., 2011. Antioxidant，antinociceptive，and anti-inflammatory activities of Xanthii fructus extract [J]. J Ethnopharmacol, 135(2): 545-551.

JENSEN SR, NIELSEN BJ, NORN V, 1979. Phenolic glucosides in *Viburnum henryi* [J]. Phytochemistry, 18(5): 904- 906.

JIANGSU New Medical College. 1985. Chinese Medicine Dictionary[M]. Shanghai: Science and Technology Press [江苏新医学院编. 1985. 中药大词典[M]. 上海：上海科技出版社]

JINA L, JAE WC, HYE YH, et al., 2020. 4-Hydroxybenzaldehyde restricts the intracellular growth of toxoplasma gondii by inducing SIRT1-mediated autophagy in macrophages [J]. Korean J Parasitol, 58(1): 7-14.

KIM NY, PAE HO, KO S, et al., 1999. In vitro inducible nitric oxide synthesis inhibitory active constituents from *Fraxinus rhynchophylla* [J]. Planta Med, 65: 656-658.

LIN B, ZHAO Y, HAN P, et al., 2014. Anti-arthritic activity of *Xanthium strumarium* L. extract on complete freund's adjuvant induced arthritis in rats [J]. J Ethnopharmacol, 155: 248-255.

LIN VC, DING H, KUO S, et al., 2011. Evaluation of in vitro and *in vivo* depigmenting activity of raspberry ketone from *Rheum officinale* [J]. Int J Mol Sci, 12: 4819-4835.

LIU XJ, 2013. Studies on the quality evaluation of xanthium medicinal materials[M]. Nanjing: Nanjing Univ Chin Med. [刘秀娟，2013. 苍耳类药材的品质评价研究[M].南京：南京中医药大学.]

MA G, CHONG L, LI Z, et al., 2009. Anticancer activities of sesquiterpene lactones from *Cyathocline purpurea in vitro* [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 64: 143-152.

MA R;, XU XQ, TANG J, et al., 2012. Research progress on anti-inflammatory and anti-tumor effects of caffeic acid phenethyl ester based on NF-κB signaling pathway [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 26(3): 393-396. [马瑞丽，徐秀泉，汤建，等，2012. 基于NF-κB信号通路的咖啡酸苯乙酯抗炎和抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国药理与毒理学杂志，26(3)：393-396.]

MIR TM, MA G, ALI Z , et al., 2021. Effect of raspberry ketone on normal,obese and health-compromised obese mice：a preliminary study [J]. J Diet Suppl, 18: 1-16.
NATIONAL Pharmacopoeia Commission, 2015. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China (Part I)[M]. Beijing: China medical Science and Technology Press: 162. [国家药典委员会. 2020.中华人民共和国药典（一部）[M]. 北京：中国医药科技出版社：169]
NIBRET E, YOUNS M, KRAUTHSIEGEL RL, et al., 2011. Biological activities of xanthatin from *Xanthium strumarium* Leaves [J]. Phytother Res, 25: 1883-1890.
PENG W, MING QL, HAN P, et al., 2014. Anti-allergic rhinitis effect of caffeoylxanthia zonoside isolated from fruits of *Xanthium strumarium* L. in rodent animals [J]. Phytomedicine, 21(6): 824- 828.
REZA MK, ANAEIGOUDARI A, AGBOR G, 2021. Anti-viral and anti-inflammatory effects of kaemp-ferol and quercetin and COVID-2019: a scoping review [J]. Asian Pac J Trop Biomed, 11(8): 327-334.
SALEEM R, FAIZI S, DEEBA F, et al., 1997. A new bisbenzopyran from *Aloe barbadensis* roots [J]. Planta Med, 63(5): 454-456.
SEPPORTA MV, MAZZA T, MOROZZI G, et al., 2013. Pinoresinol inhibits proliferation and induces different-iation on human HL60 leukemia cells [J]. Nutr Cancer, 65: 1208-1218.
SHEN T, XIAO C, XIANG B, et al., 2017. Study on the mechanism of the anti-platelet aggregation of 4-HBd from *Gastrodia* [J]. Chin Pharmac, 26(18) : 4-7. [申婷，肖纯，向彬，等，2017．天麻成分 4- HBd 抗血小板聚集的作用机制研究[J]．中国药业，26(18)： 4-7.]
SHU RG, LI SS, HU HW, et al., 2010. Studies on chemical constituents of *Chimonanthus nitens* oliv. [J]. Chin Pharm J, 45(15): 1134-1135. [舒任庚，李莎莎，胡浩武，等，2010. 山蜡梅化学成分研究[J]．中国药学杂志，45(15)：1134-1135.]
SU LL, TANG XL, ZHANG J, et al., 2011. Studies on chemical constituents of gorgonian *Melifhaea* sp. from the south China sea [J]. Chin J Mar Drugs, 30(5): 18-22. [苏丽丽，唐旭利，张婧，等，2011. 中国南海海底柏柳珊瑚化学成分研究[J]．中国海洋药物，30(5)：18-22.]
XIANG B, XIAO C, SHEN T, et al., 2017. 4-HBd can prevent neuroinflammation after acute cerebral ischemia in rats [J]. Chin Trad Pat Med, 39(8) : 1572- 1576. [向彬，肖纯，申婷，等，2017．4- HBd可预防大鼠急性脑缺血后神经炎症[J]．中成药，39(8) ： 1572- 1576.]
XU L, AI ZF, ZENG LF, et al., 2019. Study on the chemical constituents of *Commelina communis* [J]. Chin Trad Pat Med, 41(7): 1592-1597. [徐丽，艾志福，曾令峰，等，2019. 鸭跖草化学成分的研究[J]．中成药，41(7)：1592-1597.]
ZENG LF, XU JW, XU L, et al., 2017. Separation and identification of flavonoids from *Siegesbeckia lanceolata* [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 23(14): 74-77. [曾令峰，徐骏伟，徐丽，等，2017. 毛梗豨莶草黄酮类化学成分分离鉴定[J]．中国实验方剂学杂志，23(14)：74-77.]
ZHANG HJ, NGUYEN VH, NGUYEN MC, et al., 2005. Sesquiterpenes and butenolides， natural anti-HIV constituents from *Litsea verticillata* [J]. Planta Med, 71(5) : 452-457.
ZHANG L, YANG CK, LUO QP, et al., 2020. Study on the non-diterpene alkaloids in the aerial parts of *Aconitum* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 51(3): 588-593. [张莲，杨崇康，罗启鹏，等，2020. 乌头地上部分非二萜生物碱类成分研究[J]．中草药，51(3)：588-593.]
ZHAO Z, MOGHADASIAN MH, 2008. Chemistry，natural sources，dietary intake and pharmacokinetic properties offerulic acid：a review [J]. Food Chem, 109: 691-702.
ZHO XN, SONG XL, LIU W, et al., 2017. The inhibitory effect of 4-HBd on calcium overload caused by neuronal hypoxia [J]. Nat Prod Res Dev, 29(8): 1296- 1301. [周晓楠，宋雪兰，柳弯，等，2017．4-HBd 对神经元缺氧所致钙超载的抑制作用[J]．天然产物研究与开发，29(8)：1296- 1301.]
ZHU LL, XU L, WU GQ, et al., 2018. Study on Chemical Constituents of *Siegesbeckia lanceolata* [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 24(2): 57-61. [朱伶俐，徐丽，吴华强，等，2018. 毛梗豨莶草化学成分研究Ⅱ[J]．中国实验方剂学杂志，24(2)：57-61.]
ZHU YP, LI X, DU Y, et al., 2018. Study on the protective effect and mechanism of 4-HBd on the blood-brain barrier [J]. China J Chin Mater Med, 43(5) : 1021- 1027. [祝燕平，李欣，杜瑶，等，2018．4- HBd 对血脑屏障的保护作用及机制研究[J]．中国中药杂志，43(5) ：1021- 1027.]